Lane Medical Library

dem chemischen Laboratorium (Priv.-Doz. Dr. W. Schuler) der
zinischen Universitätsklinik Erlangen (Vorstand: Prof. Dr. L. R. Müller)

Über enterale und perorale Insulinwirkung.

II. Mitteilung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Medizinischen Fakultät

Bayerischen Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt von

Alfred Hoffmann

aus Nürnberg.

Tag der mündlichen Prüfung:
8. November 1935.

Kallmünz
Buchdruckerei von Michael Laßleben
1935

936/404

Referent: Priv.-Doz. Dr. W. Schuler.

Dekan: Geh. Rat Prof. Dr. F. Jamin.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit!

INHALTSVERZEICHNIS.

Seite

Theoretischer Teil. 6

A. Einleitung. 6

Zusammenstellung der bisher angewandten Methoden eine enterale oder perorale Resorption des Insulins zu erreichen und deren Erfolge.

Insulin zusammen mit:

1. Lipoiden
2. Saponin
3. Leberextrakt
4. Gallensäure
5. Blutserum
6. Extrakt aus Ascaris lumbricoides

B. Neue Fragestellungen und deren experimentelle Bearbeitung. 10

1. Die schützende Eigenschaft von Dickdarmschleimhaut, Dünndarmschleimhaut und Pancreas infolge ihres Gehaltes an Antifermenten.
2. Die Schutzwirkung der inaktivierten proteolytischen Fermente Papain und Trypsin nach dem Gedankengang von W. Schuler.
3. Versuchsmethode.
4. Versuchsergebnisse und deren Diskussion.

Versuchsteil. 13

1. Versuchsanordnung. 13
2. Versuche über den Nüchternblutzucker. 14
3. Versuche über die Wirkung subcutaner Insulineinspritzung. 15
4. Versuchsreihen mit Dickdarmschleimhaut-, Dünndarmschleimhaut-, Pancreas-, Insulin-Gemischen. 17
5. Versuchsreihe mit einem inaktivierten Papain-Insulin-Gemisch. 19
6. Versuchsreihen mit einem inaktivierten Trypsin-Insulin-Gemisch 20

   a) bei rectaler Darreichung
   b) bei oraler Darreichung.

Zusammenfassung. 28

Literaturverzeichnis. 30

Die letzten einschlägigen Angaben über die enterale Insulin wirkung finden sich in einer Arbeit von R. Werner (1), die gleich falls aus dem chemischen Laboratorium der medizinischen Univer sitätsklinik Erlangen stammt. Der Verfasser legt hierin die Nach teile der Injektionsbehandlung des Diabetes mellitus dar und gib eine umfassende Übersicht über die aus der ziemlich reichhaltige Literatur zu ersehenden Versuche, auf eine andere Art und Weis einen Insulineffekt zu erzielen.

Die zahlreichen, bis jetzt durchgeführten Untersuchungen, In sulin, insulinähnlich wirkende Stoffe oder andere Antidiabetica au oralem, rectalem, perlingualem, epicutanem oder pertrachealem Weg bei normalen oder diabetischen Menschen und Tieren zur Wirkun zu bringen, haben in Hinsicht auf praktische Verwertbarkeit nu sehr wenig befriedigende Erfolge gezeigt.

Im folgenden sei eine Zusammenstellung der seither ange wandten Methoden, die eine enterale oder perorale Resorption de Insulins zum Ziele hatten, gegeben und deren Erfolge kurz ge würdigt.

Sicher ist, daß die übliche Insulinlösung vom Magen oder vo der gesamten Schleimhaut des Darmkanals nicht in Wirksamkei tritt. Deshalb hatte eine große Anzahl von Forschern die verschieden artigsten Schutzstoffe dem Insulin beigegeben um dieses selbst ode zu mindest dessen blutzuckersenkenden Anteil auf dem Wege de Magendarmkanals in wirksamer Form in die Blutbahn zu überführen

Den mannigfaltigen Bemühungen, die der Wirkung oral ode rectal gegebenen Insulins im Wege stehenden Schädlichkeiten aus zuschalten oder zu umgehen, lagen meistens zwei theoretische Über legungen zu Grunde:

1. Die fermentative Zerstörung des Insulins im Magendarm trakt muß durch irgendwelche Stoffe verhindert werden, die ent weder das Insulin vor der Verdauung schützen oder die Tätigkei der Fermente, und zwar hauptsächlich des Pepsins, Trypsins un Erepsins, lähmen.

2. Unter der Annahme der Resorbierbarkeit von Insulin über haupt müssen Substanzen zugesetzt werden, die die Resorption för dern und beschleunigen.

Einige Forscher suchten das Insulin in eine Lipoidhülle ein zuschließen, die einen schützenden Überzug vor dem fermentative Angriff im Magen-Darmtractus darstellen sollte.

So gab E. Salén (2) Insulin in Olivenöl gelöst per os un konnte am Menschen bei mäßig schweren Diabetesfällen eine R

orption nachweisen, jedoch reagierten die Patienten individuell ehr verschieden.

H. Bernhard und C. B. Strauch (3) verabreichten beim Kaninchen Insulin in gut haltbaren Wasser-Öl-Emulsionen in den Magen und Darm. Zur Herstellung der Emulsionen verwandten sie Metacholesterin, Öl, Paraffinöl und Adeps lanae. Selbst bei Dosen bis zu 200 Einheiten Insulin reagierten die Tiere nur mit minimalen Blutzuckerschwankungen oder blieben ganz unbeeinflußt.

Sehr widersprechende Angaben finden sich in der Literatur über die Wirksamkeit von Insulin-Saponin-Gemischen. Die Saponine bewirken eine Hyperämie und eine Schädigung der Magenschleimhaut, wodurch eine bessere und raschere Resorption des Insulins zustande kommen kann. Die Ursache der Saponinwirkung dürfte daneben noch in einer das Insulin vor der Pepsin- und Trypsinwirkung schützenden Eigenschaft zu suchen sein.

Eine praktische Bedeutung kommt diesen Untersuchungen nicht zu, da es unmöglich ist das Insulin mit starken Giften gemischt zu geben.

F. Lasch und S. Brügel (4, 5) ist es gelungen relativ kleine Insulindosen (0,3—0,5 E bei Kaninchen, 10 E bei Hunden und 20 E bei Menschen) durch Zugabe von 0,5 g Saponinum purum albissimum „Merck" bei peroraler Verabreichung zur Wirkung zu bringen und lang dauernde Hypoglykämie bei Mensch und Tier hervorzurufen.

Auch W. Löwenstein und O. Merdinger (6) erzielten bei ähnlichen Versuchen mehrmals gute Insulinwirkung.

Dagegen konnte G. Samek (7) durch perorale Zufuhr von 30—50 Einheiten Insulin, dem kleine Mengen von Saponin, entsprechend den Angaben von Lasch und Brügel zugesetzt waren, keine sichere Wirkung auf den Blutzucker von Hunden feststellen.

Ebenso kamen E. Dingemanse und E. Laqueur (8) bei der Nachprüfung der Versuche von Lasch und Brügel selbst mit Dosen von 100 klinischen Einheiten bei Hunden und Kaninchen zu völlig negativen Resultaten.

Im Verlaufe der Untersuchungen über die Möglichkeit, Insulin peroral oder rectal wirksam zu machen, bedienten sich einige Forscher auch eines Leberextraktes als Resorptionsvermittler. Sie glauben annehmen zu dürfen, daß der Leberextrakt dem Insulin einen Schutz vor der zerstörenden Pepsin-Salzsäure des Magens bietet und vielleicht auch ein längeres Verweilen des Insulins im Magen bedingt, so daß von hier eine gute Resorption zustande kommt. Im Gegensatz dazu vermag der Leberextrakt das Insulin vor den Fermenten des Darmkanals nicht zu schützen.

F. Bertram, S. Horwitz und E. Wahncau (9) gelang es durch perorale Insulinzufuhr (20—40 Einheiten) unter Verwendung eines Leberextraktes beim nüchternen Patienten beträchtliche und prompt einsetzende Senkungen des Blutzuckerspiegels zu erzielen. In einer anderen Versuchsreihe führte die Verabreichung des Insulin-Leberextraktgemisches $1^1/_2$ Stunden vor einer auf nüchternen Magen gegebenen Kohlehydratzufuhr zu einer eindeutigen Abschwächung der alimentären Glykämie. Doch war eine Behandlung des Diabetikers mit dem peroral zugeführten Insulin-Leberextrakt unter den gewöhnlichen Lebensbedingungen, d. h. bei fortgesetzter Nahrungszufuhr, praktisch wirkungslos. Die Gründe hierfür können darin liegen, daß entweder bei gleichzeitiger Verabfolgung von Nahrungsmitteln das Insulin sehr schnell in den Darm übertritt und dort der Zerstörung durch die Darmfermente anheimfällt oder daß die durch die Nahrungszufuhr erhöhte Fermentproduktion des Magens die Verdauung und Wirkungslosigkeit des Insulins bedingt.

Murlin, Pierce und Gregg (10) stellten an pancreasdiabetischen Hunden fest, daß die Resorption des Insulins vom Verdauungstraktus durch Salzlösungen mit Leberpulpa und Leberextrakte beschleunigt wird.

Die Versuche von H. Steinitz (11) jedoch gaben keinen Anhaltspunkt dafür, daß die Leberextrakte einen Schutz gegen die Magenfermente bieten. In Versuchen an Diabetikern konnte er zeigen, daß das von Bertram, Horwitz und Wahncau gegebene Insulin-Leberextrakt-Gemisch keine blutzuckersenkende Wirkung ausübt.

Bei der Suche nach weiteren, dem Insulin beizufügenden Mitteln wurde auch die Fähigkeit der Galle und Gallensäuren als Resorptionsvermittler des Insulins untersucht.

W. Fornet (12) behauptet, daß bei Diabetikern eine Resorption des in Form von Gallepillen beigebrachten Insulins stattfindet. Doch waren seine Versuche nicht eindeutig, da er keine nachweisbare Erniedrigung des Blutzuckers feststellen konnte.

R. Stephan (13) glaubt in einem ähnlichen Präparat — einer Kombination von Insulin mit der Desoxycholsäure, dem Cholosulin — ein Mittel gefunden zu haben, das per os verabreicht, den Blutzucker deutlich beeinflußt und die diabetische Stoffwechsellage bessert.

P. Martini und W. Nagel (14), ebenso wie V. van der Reis und G. Schlomka (15), die die Angaben Stephans nachprüften, kamen zu einem vollständig negativen Ausfall ihrer Untersuchungen, der Blutzuckerverlauf wurde nicht im geringsten beeinflußt.

Die Untersuchungen von H. Steinitz (16) über den Einfluß des Cholosulins auf die Blutzuckerkurve an mit Cholosulin behandelten Diabetikern haben völlig andere Ergebnisse gehabt, als die von Stephan veröffentlichten.

Auch im Tierversuch hat sich die Kombination Insulin-Desoxycholsäure als wirkungslos erwiesen. R. Kühn (17) war nicht in der Lage beim Kaninchen über im Sinne Stephans positive Resultate zu berichten.

Schließlich stellten noch E. Wahncau und F. Bertram (18) die Unwirksamkeit des Insulin Fornet wie des Cholosulins an Diabetikern selbst bei längerer Verabreichung und in größeren Dosen fest.

Zur Verhinderung der fermentativen Zerstörung in den Magen- und Darmpartien hat man auch versucht dem Insulin Serum, das eiweißverdauungshemmende Körper enthält, als Schutzstoff beizugeben.

S. Peskind, I. M. Rogoff und G. N. Stewart (19) haben teilweise positive Resultate erhalten. Insulin, in Blut, Serum, Hühnereiweiß gelöst, wurde bei Kaninchen schnell aus dem Enddarm resorbiert und vermochte den Blutzucker beträchtlich herabzusetzen oder sogar Krämpfe auszulösen. Auffallend war der negative Ausfall der Versuche bei normalen und diabetischen Hunden.

A. G. Eaton und J. R. Murlin (20) gelang es beim pancreaslosen Hund durch große peroral gegebene Dosen Insulin (200—400 Einheiten), dem neben Calciumlactat und Natriumbicarbonat Blutserum zugefügt wurde, den Blutzucker zu senken.

Schließlich kam man auf den Gedanken aus den Askariden, die vor der Verdauung durch die Magendarmsäfte geschützt sind, antiproteolytisch wirkende Stoffe zu gewinnen.

B. K. Harned und Th. P. Nash jr. (21) stellten einen Extrakt aus Ascaris lumbricoides dar, den sie mit Insulin zusammen bei Hunden verabreichten. Sie konnten bei pancreaslosen Hunden durch direkte Einführung des Gemisches in das Duodenum, sowie durch perorale Verabfolgung einen Insulineffekt erzielen, beim normalen Hund jedoch blieb jeder Erfolg aus.

R. Werner (1) unterzog diese Versuche einer Nachprüfung und konnte eine Schutzwirkung des rectal zugeführten Ascaridenextraktes für Insulin am normalen Kaninchen nicht feststellen.

Das Ziel vorliegender Arbeit war nun, in Fortsetzung der Bemühungen eine perorale oder rectale Verabreichung des Insulins zu ermöglichen, neue Mittel und Wege experimentell zu prüfen, die das Insulin der zerstörenden Wirkung des Magen-Darmkanals entziehen konnten.

Zunächst sollte untersucht werden, ob vielleicht die Dünndarm- und Dickdarmschleimhaut oder das Pancreas einen Stoff mit

antifermentativer Wirkung enthält, der dem Insulin als Schutzmittel beigegeben werden kann.

Einer anderen Versuchsreihe lag folgender Gedankengang von W. Schuler zugrunde:

Die Verdauung des Insulins durch die Fermente geht nach der Fermenttheorie dadurch vor sich, daß sich das Ferment an eine Molekülgruppe des Insulins bindet. Wenn es nun gelingt, die Angriffsmöglichkeit der aktiven Fermente dadurch unmöglich zu machen, daß man eine Verbindung des Insulins mit einem inaktivierten Ferment herzustellen sucht, so ist das Insulin theoretisch vor der Zerstörung geschützt, da die Molekülgruppe, an die sich das Ferment anlagert, bereits besetzt ist. Voraussetzung muß sein, daß dadurch die hormonale Wirksamkeit des Insulins nicht aufgehoben wird.

Untersuchungen in dieser Richtung sollten sowohl mit dem inaktivierten Trypsin, wie auch mit dem ihm nahestehenden Ferment Papayotin unternommen werden. Die fermentative Unwirksamkeit des Trypsins und Papayotins wurde durch zehn Minuten langes Kochen erreicht.

Veranlassung hiezu boten Versuche im gleichen Sinn mit inaktiviertem Pepsin von R. Werner (1), die an Kaninchen eine deutliche Insulinwirkung zeigten und eine Weiterbearbeitung der genannten Arbeitshypothese von W. Schuler aussichtsreich erschienen ließen. Es lag ferner die Möglichkeit nahe, daß eine Kombination des Insulins sowohl mit dem inaktivierten Pepsin als auch mit dem inaktivierten Trypsin seine Zerstörung im Magen wie im Darm verhindern könnte.

Als Versuchstiere verwendeten wir normale, ausgewachsene Kaninchen, die 24 Stunden lang gehungert hatten. Die Blutzuckerkurve wurde als Maßstab für die Beurteilung der Resorptionsgröße des Insulins gewählt. Zur Blutzuckerbestimmung gelangte die wegen ihres geringen Blutverbrauches ausgezeichnete und allen anderen Methoden an Genauigkeit überlegene Methode nach H. C. Hagedorn und B. N. Jensen (22) zur Anwendung.

Der Blutzucker wurde jeweils vor der rectalen bezw. peroralen Applikation der Insulingemische bestimmt und sein Verhalten in Abständen von einer Stunde kontrolliert. Da sich die Wirkung des Insulins meist in den ersten vier Stunden zeigte, wurde die Blutzuckerbestimmung nur in einigen wenigen Fällen über diesen Zeitraum hinaus durchgeführt. Versuche mit Insulin allein wurden nicht mehr ausgeführt, da auf Grund der vorhandenen Literaturangaben ersichtlich ist, daß eine rectale oder perorale Verabreichung

auch größerer Mengen Insulin ohne besondere Maßnahmen keine blutzuckersenkende Wirkung ausübt.

Orientierende Versuche über das Verhalten des Blutzuckers in der Nüchternperiode bestätigten die auch von anderen Untersuchern und R. Werner (1) festgestellte Tatsache, daß der Blutzucker sich beim hungernden Kaninchen auf ziemlich gleicher Höhe hält. In anderen Vorversuchen wurde eine kleinere Menge Insulin (4 Einheiten) auch subcutan verabreicht, um Vergleiche über die Wirksamkeit auf den Blutzuckerspiegel mit der peroralen und rectalen Applikation zu bekommen. Genauere Angaben hierüber finden sich im experimentellen Teil bei den einzelnen Versuchen.

Die Hauptversuche, bei denen Dickdarmschleimhaut, Dünndarmschleimhaut oder Pancreas als Schutzstoffe des Insulins dienen sollten, wurden in der Weise ausgeführt, daß wechselnde Mengen der betreffenden Substanz in destilliertem Wasser und Salzsäure gelöst und aufgekocht wurden und hierauf zu einer standardisierten Insulinlösung von 20 E hinzugefügt wurden. Dieses Gemisch wurde den Versuchskaninchen dann sofort mittels eines dünnen Gummikatheters rectal verabreicht. Es wurde die Schutzwirkung von Dickdarmschleimhaut, Dünndarmschleimhaut, Pancreas allein und die Wirkung der Kombination von Dickdarm- mit Dünndarmschleimhaut und Pancreas mit Dünndarmschleimhaut untersucht. Bei sämtlichen Versuchen traten Blutzuckersenkungen ein, die im Maximum bis zu 38% des Ausgangswertes betrugen. Allerdings wurden hier trotz der fünffachen Dosis Insulin die bei der subcutanen Einspritzung aufgetretenen Tiefstwerte nicht erreicht. Es steht jedoch fest, daß Dickdarm- und Dünndarmschleimhaut sowie Pancreas Stoffe enthalten, die wenigstens einen Teil des rectal verabreichten Insulins vor der fermentativen Inaktivierung zu schützen vermögen.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden auf Grund der bereits angeführten theoretischen Überlegungen von W. Schuler Gemische von Insulin und inaktiviertem proteolytischem Ferment Papain den Kaninchen rectal verabreicht; zu diesem Zweck wurden Lösungen mit verschiedenen Papainmengen und 20 Einheiten Insulin hergestellt. In keinem einzigen Versuch war die rectale Insulin-Papain Zufuhr mit einer deutlichen Blutzuckersenkung beantwortet. Die Vermutung, durch inaktiviertes Papain eine Resorption des Insulins vom Darmkanal aus zu erreichen, hat sich demnach nicht bestätigt.

Bedeutend günstigere Ergebnisse hatten die aus den gleichen Erwägungen heraus angestellten Versuche mit inaktivierten Trypsin-Insulin-Gemischen. Das Trypsin wurde durch 10 Minuten langes Ko-

chen in alkalischer Lösung fermentativ unwirksam gemacht und mit 20 E Insulin zusammen in saurer Lösung sowohl peroral wie rectal gegeben. Die verschiedenartigen Herstellungsmethoden der Versuchslösungen, die eine Verbesserung der Resultate zum Ziele hatten, und die gemessenen Blutzuckerwerte sind wiederum im Versuchsteil eingehend beschrieben und tabellarisch zusammengefaßt. Das Gesamtergebnis dieser Untersuchungsreihe zeigte die beachtenswerte Tatsache, daß es durch inaktiviertes Trypsin tatsächlich gelingt, das Insulin zur Wirksamkeit zu bringen. Neben vielen Versuchen, in denen beträchtliche Blutzuckersenkungen, teilweise bis zur Hälfte des Ausgangswertes und manchmal darüber hinaus, auftraten, kamen jedoch auch eine Anzahl Fälle zur Beobachtung, in denen die Kaninchen keine Resorptionsbereitschaft zeigten. Während bei der rectalen Verabreichung des Insulin-Trypsin-Gemisches fast alle Versuche von Erfolg begleitet waren, wiesen die bei der oralen Applikation häufiger auftretenden Versager darauf hin, daß die Verhältnisse hier vielleicht doch komplizierter liegen. Die Bedingungen, die einen weniger günstigen oder negativen Ausfall der Ergebnisse verursachten, konnten nicht gefunden werden. Unter Umständen vermag eine wechselnde Bakterienflora des Magens und Darms und andere noch unbekannte Faktoren die Konstanz der Ergebnisse weitgehendst zu beeinflussen.

Im allgemeinen ist zu beachten, daß Forscher, die an pancreaslosen Tieren oder diabetischen Menschen arbeiteten, deren erhöhter Blutzucker vielleicht noch nicht einmal konstant eingestellt war, viel leichter von größeren Blutzuckersenkungen berichten konnten. Auch glaubten Autoren wie Fornet Blutzuckersenkungen von 3 mg % als Erfolg buchen zu müssen. Demgegenüber sind die in vorliegenden Versuchen erreichten Ergebnisse, die an einem normalen Kaninchenorganismus, der einen Eingriff in das Incretorium besser zu begegnen weiß, doch als sehr bemerkenswert zu betrachten.

Diese positiven Resultate halten die Hoffnung wach, daß es doch noch gelingen könnte, vielleicht auf dem beschrittenen Wege, zu einem peroral anwendbaren Insulinpräparat zu kommen.

VERSUCHSTEIL.

Versuchsanordnung.

Die Untersuchungen wurden ausgeführt an männlichen und weiblichen normalen Kaninchen, die ein Gewicht zwischen 2300 g und 3700 g aufwiesen.

Die Zuführung der Insulin-Gemische erfolgte bei peroraler Verabreichung mit der Schlundsonde, durch die die betreffende Lösung mittels einer Spritze direkt in den Magen gegeben wurde. Ein Erbrechen trat niemals ein. Zur rectalen Applikation diente ein dünner Gummikatheter, der etwas eingefettet ca. 10 cm weit in den Darm eingeführt wurde. Durch Einspritzung von körperwarmer Lösung, nachspritzen von etwas Wasser und geeignetes Halten des Kaninchens konnte ein Verlust des Einlaufes verhindert werden.

An Insulinpräparaten stand Insulin Degewop und Trockeninsulin zur Verfügung, das jeweilig in konzentrierter Form, 40 internationale Einheiten in 1 ccm, verwendet wurde. Wir brachten bei den rectalen und peroralen Versuchen im allgemeinen 20 Einheiten zur Anwendung.

Als Gradmesser für die Wirkung des Insulins diente die Blutzuckerkurve. Da für wissenschaftliche Untersuchungen die kolorimetrischen Methoden zu große Fehlerquellen aufweisen, wurde zur quantitativen Bestimmung des Blutzuckers die Mikromethode von Hagedorn und Jensen (22) gewählt, die an 0,1 ccm Blut ausgeführt werden kann. Diese Menge wurde bei den Tieren den Venen des Ohres entnommen, wobei wir die Wahrnehmung machten, daß bei einem starken Absinken des Blutzuckerspiegels die Ohrgefäße häufig kontrahiert waren und das Blut nur spärlich aus ihnen floß. Auch bei denjenigen Tieren, die sich bei der Blutabnahme äußerst erregt zeigten und sich im Käfig mit weggestreckten Extremitäten niederlegten, konnte in grober Weise auf einen hypoglykämischen Zustand geschlossen werden.

Die Bestimmungen wurden immer zu derselben Tageszeit vorgenommen. 24 Stunden vor den einzelnen Untersuchungen wurde dem Tiere jede Nahrung verweigert um alle durch die Ernährung bedingten Fehlerquellen auszuschließen.

Da ferner der Blutzuckerwert auch starken von der Zeit abhängigen Schwankungen unterliegt, wurde der Nüchternblutzucker jeweils vor Beginn des Versuches bei den Hungerkaninchen genau bestimmt um dadurch sichere Vergleichsmöglichkeiten für die sofort anschließenden Untersuchungen zu schaffen. Nachfolgend wurde in

Abständen von je einer Stunde der Blutzucker kontrolliert. Diese Bestimmungen wurden so lange fortgesetzt, bis der Blutzuckerspiegel wieder die ungefähre Höhe seines Ausgangswertes erreicht hatte, um nicht nur das maximale Absinken des Blutzuckers, sondern auch die Zeitdauer der Einwirkung des resorbierten Insulins zu ersehen.

Die in den folgenden Tabellen angegebenen Blutzuckerwerte stellen in jedem einzelnen Fall den Mittelwert von zwei gleichzeitig nebeneinander durchgeführten und gut übereinstimmenden Analysen dar.

Versuche über den Nüchternblutzucker.
(Leerversuche)

Bei den sämtlichen zu den Untersuchungen verwendeten 24 stündigen Hungerkaninchen wurde das Verhalten der Nüchternblutzuckerkurve innerhalb eines Zeitraumes von 3 Stunden verfolgt. Die untenstehende Tabelle beschränkt sich darauf aus der Reihe der völlig gleichsinnig verlaufenden Versuche 4 willkürlich gewählte Beispiele wiederzugeben.

	Blutzucker in mg%			
	8 Uhr	9 Uhr	10 Uhr	11 Uhr
Kaninchen Nr. 1	110	111	111	114
„ Nr. 2	102	104	103	104
„ Nr. 3	108	103	100	109
„ Nr. 4	111	106	101	105

Ergebnis:

Der Blutzuckerspiegel beim Kaninchen hat, wie auch in der Literatur angegeben, im Mittel eine Höhe von ca. 100 mg%. Innerhalb einer auch für die übrigen Versuche in Betracht kommenden Zeitdauer von 3 Stunden wurde der größte Unterschied zwischen dem höchsten und tiefsten Wert bei Kaninchen Nr. 4 festgestellt, er betrug 10 mg%. Diese Differenz ist teils physiologischer Natur, teils ist sie in der Fehlerquelle der verwendeten Bestimmungsmethodik begründet. In den späteren Versuchen dürfen demnach Schwankungen des Blutzuckers in der Größenordnung von ungefähr 10 mg% nicht als Folge der medikamentösen Behandlung betrachtet werden.

Versuche über die Wirkung subcutaner Insulineinspritzung.

Die eigentlichen Hauptversuche bedingten zu einer einwandfreien Beurteilung noch einen anderen Vorversuch. So wurden 4 Einheiten Insulin (0,2 ccm) in 0,8 ccm physiologischer Kochsalzlösung allen Kaninchen zunächst subcutan verabreicht, um einerseits dessen Wirksamkeit zu überprüfen und andrerseits eine eventuelle Hyper- oder Hyposensibilität der verwendeten Tiere gegenüber dem Insulin festzustellen. Während einer Zeitdauer von 4 Stunden wurde das Verhalten der Blutzuckerkurve bestimmt. Auch diese Versuche verliefen bei allen Kaninchen gleichartig, so daß 4 Beispiele genügen mögen, den Charakter dieser Blutzuckerkurven zu zeigen.

	Blutzucker in mg %					
	Ausgangswert	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.	Differenz nach 1 Std.
Kaninchen Nr. 1	119	45	34	36	39	—74
„ Nr. 5	114	43	40	47	60	—71
„ Nr. 2	117	48	29	32	40	—69
„ Nr. 4	112	42	45	23	im Schock gemessen	—70

Ergebnis:

Das Insulin ist wirksam, die Tiere reagieren in ziemlich gleicher Weise. 2—3 Stunden nach der Insulinzufuhr hatte der Blutzucker seine tiefsten Punkte erreicht um sich dann wieder dem Ausgangswert zu nähern. Die durch subcutane Einverleibung von 4 E Insulin bewirkte Blutzuckersenkung lag zwischen 75 und 90 mg%. Die bei Kaninchen Nr. 4 erzielte Tiefstgrenze von 23 mg% löste einen typischen hypoglykämischen Krampfanfall aus, der durch Zufuhr von Traubenzuckerlösung schlagartig behoben wurde.

Schließlich erlauben diese Versuche noch eine Vergleichsmöglichkeit mit der Menge und der Wirkung des bei der rectalen und peroralen Applikation verwendeten Insulins.

1. Versuchsreihe.

Versuche mit einem Dickdarmschleimhaut-Insulin-Gemisch bei rectaler Verabreichung.

Nach Aufschneiden eines Schweinedickdarms wurde die Schleimhaut mit dem Glaspatel abgekratzt, mit Aether und Aceton getrocknet und dann gesiebt. Von dem so gewonnenen Pulver wurden 60,

bezw. 120, bezw. 240 mg in jeweils 4 ccm Aqua dest. und 4 ccm $n/_{10}$ Salzsäure gelöst, 10 Minuten im Wasserbad gekocht und daraufhin filtriert. Je 4 ccm des Filtrats wurden mit 20 E Insulin (0,5 ccm) versetzt und den einzelnen Kaninchen sofort rectal gegeben.

	Blutzucker in mg %				
	Ausgangswert	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	Differenz nach 1 Std.
Kaninchen Nr. 3 30 mg Dickdarmpulver in 2 ccm $n/_{10}$ — H Cl u. 2 ccm Aqua dest. gelöst und gekocht + 20 E Insulin	123	102	110	117	—21
Kaninchen Nr. 4 60 mg Dickdarmpulver in 2 ccm $n/_{10}$ — H Cl u. 2 ccm Aqua dest. gelöst u. gekocht + 20 E Insulin	118	91	108	109	—27
Kaninchen Nr. 6 120 mg Dickdarmpulver in 2 ccm $n/_{10}$ — H Cl u. 2 ccm Aqua dest. gelöst u. gekocht + 20 E Insulin	120	90	105	115	—30

Ergebnis:

1 Stunde nach Versuchsbeginn war bei sämtlichen Kaninchen der Blutzucker wenig, aber deutlich abgesunken, nach 3 Stunden war der Ausgangswert wieder erreicht. Die verschiedenen Mengen des verwendeten Dickdarmextraktes scheinen keinen wesentlichen Einfluß auf die Größe der Insulinresorption auszuüben.

Versuche mit einem Dickdarm-Dünndarmschleimhaut-Insulin-Gemisch bei rectaler Verabreichung.

Die Herstellung des rectal applizierten Gemisches geschah in völlig gleicher Weise wie im vorangegangenen Versuch.

	Blutzucker in mg %					
	Ausgangswert	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.	Diff. nach 1 Std.
Kaninchen Nr. 2: 60 mg Dickdarm-Dünndarmschleimhaut in 2 ccm n/10—H Cl u. 2 ccm Aqua dest. gelöst u. gekocht + 20 E Insulin	126	114	126	126		—12
Kaninchen Nr. 7: 120 mg Dickdarm-Dünndarmschleimhaut in 2 ccm n/10—H Cl u. 2 ccm Aqua dest. gelöst u. gekocht + 20 E Insulin	122	76	82	96	107	—46

Ergebnis:

Bei Kaninchen Nr. 2 ist ein zwar geringer, aber doch klarer Abfall des Blutzuckers zu erkennen. Dagegen trat bei Kaninchen Nr. 7, das die doppelte Menge der antitryptischen Substanz zusammen mit 20 E Insulin erhalten hatte, nach 1 Stunde eine Blutzuckersenkung von 46 mg%, d. i. also um 38% des Ausgangswertes, ein, die nach 4 Stunden noch nicht vollkommen abgeklungen war.

Versuche mit einem Dünndarm-, bezw. Pancreasextrakt-Insulin-Gemisch bei rectaler Verabreichung.

Zunächst wurde die Schutzwirkung von Pancreas- und Dünndarmpulver je für sich allein, dann in Kombination beider untersucht. Die Herstellung der Lösungen für die einzelnen Versuche geschah folgendermaßen:

Versuch a:

500 mg Pancreaspulver wurden mit 5 ccm $n/_1$-NH_3-Lösung versetzt, 30 Minuten im Thermostaten bei 40° C geschüttelt und dann filtriert. Diese Lösung wurde 10 Minuten gekocht und $n/_1$-H Cl so lange hinzugegeben bis sie sauer reagierte (Lakmus als Indikator). Nach 13 stündigem Stehen wurden 4 ccm hiervon mit 20 E Insulin gemischt und sofort rectal injiziert.

Versuch b:

250 mg Dünndarmpulver wurden mit 12 ccm $n/_1$-NH_3-Lösung versetzt, 30 Minuten im Thermostaten bei 40° C geschüttelt und dann filtriert. Diese Lösung wurde 10 Minuten gekocht und $n/_1$-H Cl so lange hinzugefügt, bis sie sauer reagierte. Nach 13 stündigem

Stehen wurden 4 ccm hievon mit 20 E Insulin gemischt und sofort rectal injiziert.

Versuch c:

Folgende Lösungen wurden bereitet:

I. 500 mg Pancreaspulver + 5 ccm $n/_1$-NH_3-Lösung

II. 250 mg Dünndarmpulver + 12 ccm $n/_1$-NH_3-Lösung.

Diese beiden Lösungen wurden je $^1/_2$ Stunde im Thermostaten bei 40° C geschüttelt und dann filtriert. Hierauf wurden 3 ccm der Lösung I und 9 ccm der Lösung II gemischt, $^1/_2$ Stunde bei 30° C stehen gelassen, 10 Minuten gekocht, filtriert, mit $n/_1$-H Cl bis zur sauern Reaktion versetzt, auf 15 ccm mit Aqua dest. aufgefüllt und 13 Stunden aufbewahrt. Zu 5 ccm dieses Dünndarm-Pancreas-Extractes wurden 20 E Insulin hinzugefügt und dieses Gemisch sofort rectal verabfolgt.

Versuch d:

Folgende Lösungen wurden hergestellt:

I. 500 mg Pancreaspulver + 5 ccm $n/_1$-NH_3-Lösung

II. 250 mg Dünndarmpulver + 12 ccm $n/_1$-NH_3-Lösung

Jede Lösung wurde $^1/_2$ Stunde im Thermostaten bei 40° C geschüttelt und hierauf im Gegensatz zu Versuch c) sofort 10 Minuten gekocht und dann erst filtriert. 3 ccm der Lösung II wurden mit $n/_1$-H Cl angesäuert und 20 E Insulin dazugegeben. Nachdem diese Mischung 10 Minuten stand, wurde 1 ccm der Lösung I beigefügt und die Gesamtmischung sofort rectal appliziert.

Versuch e:

unterscheidet sich von obigem Versuch lediglich durch die Reihenfolge des Mischens. Es wurde hier zuerst 1 ccm der Lösung I (Pancreaspulverlösung) mit Insulin versetzt und erst zum Schlusse 3 ccm der Lösung II (Dünndarmpulverlösung) hinzugefügt.

	Blutzucker in mg %				
	Ausgangswert	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	Diff. nach 1 Std.
a) Kaninchen Nr. 3: Pancreaspulver + 20 E Ins.	118	95	112	112	—23
b) Kaninchen Nr. 4: Dünndarmpulv. + 20 E Ins.	103	82	97	97	—21
c) Kaninchen Nr. 8: Dünndarm-Pancreaspulv. + 20 E Ins.	119	76	116	117	—43
d) Kaninchen Nr. 1: Dünndarmpulv. + 20 E Ins. + Pancreaspulver	109	110	109	109	+1
e) Kaninchen Nr. 6: Pancreaspulv. + 20 E Ins. + Dünndarmpulv.	121	107	104	106	—14

Ergebnis:

Ein Extrakt von Pancreas oder Dünndarmschleimhaut ist in gleicher Weise wirksam. In jedem Fall ist eine Insulinwirkung eingetreten, der Blutzuckerspiegel sank um über 20 mg%. Bei der Verwendung des kombinierten Pancreas-Dünndarmschleimhaut-Insulinextrakts scheint die Herstellungsweise des Gemisches nicht ohne Einfluß auf das Versuchsergebnis zu sein. Während im Versuch c) der Blutzucker sich um 43 mg % oder um 36% des Ausgangswertes erniedrigte, trat im Versuch d) und e) kein oder doch ein wesentlich geringerer Erfolg ein.

Gesamtergebnis der 1. Versuchsreihe.

Die Ergebnisse dieser Versuche geben einen Anhaltspunkt dafür, daß Extrakte aus Dickdarmschleimhaut, Dünndarmschleimhaut und Pancreas dem Insulin einen Schutz gegen die zerstörende Wirkung der Fermente des Darms zu bieten vermögen. Die beobachteten Blutzuckersenkungen im Maximum bis zu 46 mg % beweisen, daß wenigstens ein Teil des verabreichten Insulins vom Kaninchendarm aus seine physiologische Wirksamkeit entfaltet hat.

2. Versuchsreihe.

Versuche mit einem inaktivierten Papain-Insulin-Gemisch bei rectaler Darreichung.

Diese Versuche hatten, wie bereits im theoretischen Teil angedeutet, zum Ziel, die Verdauung des Insulins dadurch unmöglich zu machen, daß diejenige Insulinmolekülgruppe, an der das Verdauungsferment angreift, mit dem inaktivierten proteolytischen Ferment Papain besetzt werden sollte.

Als Papainpräparat gelangte das Papayotinum 1 : 100 „Merck“ zur Anwendung.

Verschiedene Mengen Papayotinum (15, 30, 40, 120 u. 200 mg) wurden in 8 ccm Aqua dest. gelöst und mit einigen Tropfen konzentrierter Sodalösung versetzt. Zur Inaktivierung des Fermentes wurde die Lösung 10 Minuten im Wasserbad gekocht und dann filtriert. Nach Zugabe von 20 E Insulin (0,5 ccm) und einigen Tropfen $n/_1$-H Cl bis zur sauren Reaktion zu 4 ccm dieses Filtrats wurde die Mischung sofort rectal gegeben.

	Blutzucker in mg %				
	Ausgangswert	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	Diff. n. 1 Std.
Kan. Nr. 9: 7,5 mg inakt. Papain + 20 E Insulin	127	127	125		±0
Kan. Nr. 5: 15 mg inakt. Papain + 20 E Insulin	118	111	115		—7
Kan. Nr. 4: 20 mg inakt. Papain + 20 E Insulin	130	120	116	123	—10
Kan. Nr. 2: 60 mg inakt. Papain + 20 E Insulin	129	127	127	127	—2
Kan. Nr. 1: 100 mg inakt. Papain + 20 E Insulin	114	116	117	116	+2

Ergebnis:

Kein einziger, deutlich positiver Erfolg nach rectaler Einverleibung des Papain-Insulin-Gemisches kann als Beweis einer Insulinwirkung festgestellt werden.

3. Versuchsreihe.

Den nachfolgenden Versuchen lag der gleiche Gedankengang der vorigen Untersuchungsreihe zugrunde, nur sollte an Stelle des unwirksam gebliebenen Ferments Papain das Trypsin verwendet werden.

Frisches Trypsin der Firmen Merck und Schering-Kahlbaum stand zur Verfügung; ein Unterschied beider hinsichtlich Brauchbarkeit und Wirksamkeit konnte nicht festgestellt werden.

a) Wirkung von inaktivierten Trypsin-Insulin-Gemischen bei **rectaler** Darreichung.

Wechselnde Mengen Trypsin (120, 240, 340 und 400 mg) wurden in 8 ccm Aqua dest. und in 1 Tropfen konzentrierter Sodalösung gelöst. Durch 10 Minuten langes Kochen im Wasserbad wurde die Inaktivierung des Trypsins erreicht. Hierauf wurde die Lösung filtriert. 4 ccm des Filtrats wurden mit $n/_1$-HCl schwach angesäuert, die zu verabreichende Menge Insulin von 20 Einheiten (0,5 ccm) mit der Injektionsspritze zugefügt und dieses Gemisch den Tieren sofort rectal gegeben.

	Blutzucker in mg %					
	Ausgangswert	nach 1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	Diff. n. 1 Std.
Kan. Nr. 5: 60 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	126	123	110	111		— 3
Kan. Nr. 1: 120 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	124	106	102	105	111	—18
Kan. Nr. 3: ganz gleiche Verhältnisse wie oben, nur anderes Versuchstier	113	82	85	101		—31
Kan. Nr. 10: 170 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	107	93	93	97		—14
Kan. Nr. 11: 200 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	88	87	90	85		— 1

Ergebnis:

Man hat den Eindruck, als ob das Optimum des den 20 Einheiten Insulin zugesetzten inaktivierten Trypsins bei einer Menge von 120 mg liegen würde. Es trat wenigstens bei dieser Dosis die größte gemessene Senkung der Blutzuckerkonzentration bei zwei verschiedenen Tieren ein. Diese betrug 22 mg% bei Kaninchen Nr. 1 und sogar 31 mg% bei Kaninchen Nr. 3, trat nach einer Stunde auf und hatte nach zwei Stunden noch ungefähr den gleichen Tiefstwert inne. Die Versuche mit 60 mg und 120 mg inaktiviertem Trypsin hatten eine die normalen Schwankungen des Blutzuckers nicht wesentlich überschreitende Wirkung, während der Versuch mit der höchsten Dosis von 200 mg ganz ergebnislos geblieben ist.

Weitere Versuche, die deshalb nur mit der sich als brauchbar erwiesenen Menge von 120 mg Trypsin angestellt wurden, sollten zeigen, ob durch Veränderung verschiedener Faktoren bei der Herstellung des Trypsin-Insulin-Gemisches oder durch Zusätze eine Verbesserung der Resultate erreicht werden kann.

Versuch a):

Zubereitung der Lösung ebenso wie oben angegeben: 120 mg Trypsin 10 Minuten in 4 ccm Aqua dest. gekocht, schwach angesäuert und 20 E Insulin dazugegeben. Dieses fertige Gemisch wurde noch mit 1 ccm 96% Alkohol versetzt. Der Alkoholzusatz sollte als Resorptionsvermittler des Insulins dienen, daneben die Verdauungsfermente mehr oder weniger lähmen und vielleicht auch eine auf die Bakterienflora des Darms schädigende Wirkung ausüben.

Versuch b):

Herstellung der Lösung wie üblich, mit dem einzigen Unterschied, daß das fertige Gemisch nicht nur angesäuert wurde, sondern durch Zugabe von 0,5 ccm $n/_1$-H Cl auf stark saure Reaktion eingestellt war. Die stärkere Ansäuerung sollte eine eventuelle Inaktivierung des Insulins durch den alkalischen Darmsaft verhindern.

Versuch c):

120 mg Trypsin in 4 ccm Aqua dest. und zwei Tropfen konzentrierter Sodalösung 10 Minuten im Wasserbad gekocht und filtriert. Darauf Zugabe von 0,8 ccm $n/_1$-H Cl und 20 E Insulin.

Vor der rectalen Verabreichung wurde dieses Gemisch 10 Minuten bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Versuch d):

Die Zubereitung des rectalen Einlaufs erfolgte genau so wie in Versuch c), nur war die Versuchslösung zwischen Fertigstellung und Verabreichung 25 Minuten lang bei Zimmertemperatur gestanden.

Versuch e):

Das Trypsin-Insulin-Gemisch wurde wiederum in gleicher Weise hergestellt. Es wurde jedoch vor seiner rectalen Darreichung 19 Stunden lang im Eisschrank aufbewahrt.

Der Zweck dieser letzten drei Versuche war festzustellen, ob durch längeres oder kürzeres Stehen der Mischung bei verschiedenen Temperaturen eine Festigung oder Lockerung der vermuteten Bindung zwischen einer Gruppe des Insulinmoleküls und dem inaktivierten Trypsin eintritt.

	Blutzucker in mg %					
	Ausgangswert	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.	nach 4 Std.	Diff. n. 1 Std.
a) Kaninchen Nr. 4: 120 mg inakt. Trypsin + 20 E Ins. + Alkohol	117	103	103	113		—14
b) Kan. Nr. 12: 120 mg inakt. Trypsin + 20 E Ins., stark sauer	98	82	89	95		—16
c) Kan. Nr. 7: 120 mg inakt. Trypsin + 20 E Ins., stark sauer, 10 Min. gestanden bei + 20 °C	96	70	88	95		—26
d) Kan. Nr. 10: 120 mg inakt. Trypsin + 20 E Ins., stark sauer, 25 Min. gestanden bei + 20 °C	101	56	80	82	101	—45
e) Kan. Nr. 4: 120 mg inakt. Trypsin + 20 E Ins., stark sauer, 19 Std. gestanden bei 0 °C	112	75	97	94	98	—37

Ergebnis:

Durch den Alkoholzusatz ist es nicht gelungen die Ergebnisse noch zu verbessern. Die Blutzuckerkurve wurde sogar weniger als bei dem gleichen Versuch ohne Alkohol beeinflußt. Sicher ist durch die Resorption des Alkohols ein blutzuckererhöhender Faktor aufgetreten. Versuch b) zeigte, daß ein stärkerer Salzsäurezusatz wahrscheinlich nicht nötig ist. Die Versuche c)—e) ergaben einwandfreie und sehr günstige Resultate. Es tritt nicht nur ein beträchtlicher Abfall des Blutzuckerspiegels ein, sondern die Blutzuckersenkung hält auch ziemlich lange Zeit an. Das beste Ergebnis bietet Versuch d), in welchem der Blutzucker um 45 mg%, d. i. um 45% des Ausgangswertes, fällt. Es scheint fast als ob die Temperaturdifferenzen und Zeitunterschiede zwischen der Fertigstellung und Verabreichung des Trypsin-Insulin-Gemisches einen Einfluß auf dessen Wirksamkeit haben.

Gesamtergebnis der Versuche mit den inaktivierten Trypsin-Insulin-Gemischen bei rectaler Verabreichung.

Von 10 mit Insulin-Trypsinlösungen ausgeführten rectalen Versuchen konnte in 9 Fällen eine zwar verschieden hohe, aber doch eindeutige Senkung des Blutzuckers festgestellt werden. Ob jedoch der nicht gleichmäßig günstige Ausfall der Ergebnisse wirklich in der Variation der Herstellung der Versuchsgemische bedingt ist, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden. Wahrscheinlicher ist, daß ein noch unbekannter Faktor die Konstanz der Resultate beeinflußt. Auf jeden Fall steht fest, daß die theoretischen Überlegungen von W. Schuler richtig waren, was in der jedesmaligen prompt einsetzenden Wirksamkeit des Insulins zum Ausdruck kommt.

b) Wirkung von inaktivierten Trypsin-Insulin-Gemischen bei peroraler Darreichung.

Verschiedene Mengen Trypsin (120, 160, 240, 360 mg), die in 2 Tropfen konzentrierter Sodalösung und in 8 ccm Aqua dest. gelöst waren, wurden im Wasserbad 10 Minuten lang gekocht um das Trypsin fermentativ unwirksam zu machen. Diese Lösung wurde hierauf filtriert, 4 ccm davon mit $n/_1$-HCl schwach angesäuert, mit 20 E Insulin versetzt und den Kaninchen sofort mittels der Schlundsonde gegeben.

	Blutzucker in mg %						
	Ausgangswert	nach 1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.	6 Std.
Kan. Nr. 13: 60 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	115	113	105	109			
Kan. Nr. 14: 80 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	96	105	107	96			
Kan. Nr. 6: 120 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	96	100	108	104			
Kan. Nr. 6: genau wie oben, Versuch wiederholt	108	73	70	70	72	79	95
Kan. Nr. 3: wie oben, nur anderes Versuchstier	109	72	50	58	73	95	
Kan. Nr. 3: 180 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	104	118	113	111			

Ergebnis:

Die in obigen Untersuchungen erzielten Resultate sind sehr verschieden. In einem Teil der Versuche bleiben die Blutzuckerwerte innerhalb der normalen Schwankungen, vielleicht scheint sogar eine geringfügige Hyperglykämie vorhanden gewesen zu sein. Andrerseits trat bei Kaninchen Nr. 3 und Nr. 6 in je einem Fall eine sehr kräftige Blutzuckersenkung ein, die 54 bezw. 35% des Ausgangswertes betrug und über 6 Stunden lang anhielt. Diese beiden günstigen Resultate ließen mit Wahrscheinlichkeit vermuten, daß unter gewissen Bedingungen eine Resorption des inaktivierten Trypsin-Insulin-Gemisches vom Magen aus tatsächlich stattfinden kann und gaben Veranlassung die Versuche unter Veränderung einzelner Faktoren bei der Verabreichung und Herstellung der Insulin-Trypsinlösung fortzuführen.

Die folgenden Versuche dienten dazu festzustellen, ob ein Zeitunterschied zwischen der Zubereitung und der oralen Verabreichung des Trypsin-Insulin-Gemisches einen Einfluß auf das Versuchsergebnis auszuüben vermag.

Die wie üblich hergestellte Lösung wurde verwendet: 120 mg Trypsin mit 2 Tropfen konzentrierter Na_2CO_3 und 4 ccm Aqua dest. 10 Minuten gekocht, stark angesäuert und 20 E Insulin zugesetzt.

	Blutzucker in mg %			
	Ausgangswert	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.
120 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin				
Kan. Nr. 6: 10 Min. gestanden bei + 20° C	96	99	98	99
Kan. Nr. 3: 15 „ „ „ + 20° C	99	106	110	99
Kan. Nr. 15: 30 „ „ „ + 20° C	115	161	154	127
Kan. Nr. 14: 45 „ „ „ + 20° C	113	152	135	120
Kan. Nr. 7: 19 Std. „ „ 0° C	80	115	110	105

Ergebnis:

In keinem Versuch ist eine Blutzuckersenkung zu verzeichnen, teilweise ist sogar ein sehr beträchtliches Ansteigen gegenüber dem Ausgangswert festzustellen. Weshalb diese starke Hyperglykämie aufgetreten ist, können wir nicht mit Sicherheit entscheiden, wahrscheinlich war das verwendete Trypsinpräparat kohlehydrathaltig.

In den folgenden 3 Versuchen wurde die zu der wie oben bereiteten Trypsinlösung zugesetzte Insulinmenge von 20 Einheiten (0,5 ccm) auf 50 Einheiten (1,25 ccm) erhöht, dieses Gemisch unter verschiedenen Bedingungen aufbewahrt und dann peroral zugeführt.

	Blutzucker in mg %						
	Ausgangswert	nach 1 St.	nach 2 St.	nach 3 St.	nach 4 St.	nach 5 St.	nach 6 St.
120 mg inakt. Trypsin + 50 Insulin,							
Kan. Nr. 14: 20 Min. gest. bei + 40° C	95	114	111				
Kan. Nr. 15: 41 Std. gest. bei + 20° C	111	117	120				
Kan. Nr. 8: 19 Std. gestanden bei 0° C	104	44	61	41	50	69	82

Ergebnis:

Bei Kaninchen Nr. 8 ist eine lange andauernde und ganz beträchtliche Erniedrigung des Blutzuckerspiegels um 61% des Ausgangswertes eingetreten. Da jedoch der Versuch mit der kleineren

Insulindosis von 20 Einheiten unter sonst gleichen Bedingungen (siehe vorhergehende Tabelle, Kaninchen Nr. 7) vollständig ohne Erfolg geblieben ist und die übrigen beiden mit 50 Einheiten Insulin durchgeführten Versuche negativ waren, scheint die erhöhte Insulindosis nicht die Ursache dieses günstigen Ergebnisses gewesen zu sein.

In einer weiteren Versuchsfolge wurden Insulin-Trypsin-Gemische mit relativ kleinen und relativ großen Trypsinmengen hergestellt und diese jeweils 10 Minuten nach Fertigstellung mit der Magensonde den Kaninchen verabfolgt.

	Blutzucker in mg %				
	Ausgangswert	nach 1 St.	2 St.	3 St.	4 St.
10 Minuten gestanden					
Kan. Nr. 16:					
40 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	93	93	91		
Kan. Nr. 7:					
80 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	98	103	101		
Kan. Nr. 13:					
160 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	94	99	96		
Kan. Nr. 8:					
200 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	100	107	98		
Kan. Nr. 4:					
240 mg inakt. Trypsin + 20 E Insulin	94	79	55	75	74

Ergebnis:

Ohne klar ersichtlichen Grund tritt hier wiederum in einem einzigen Fall eine Insulinresorption ein, während die übrigen Kaninchen vollkommen normal verlaufende Blutzuckernüchternwerte zeigen.

Zum Schlusse wurden noch folgende Einzelversuche ausgeführt:

Versuch a):

240 mg Trypsin wurden mit 8 ccm Aqua dest. und 1 Tropfen konzentrieter Sodalösung versetzt und 10 Minuten im Wasserbad gekocht. 4 ccm dieser Trypsinlösung wurden mit $n/_1$-HCl schwach angesäuert und mit 20 E Insulin und 1 ccm 96% Alkohol gemischt. Der Alkohol war demnach 20%ig in der Gesamtmischung vorhanden, die sofort peroral gegeben wurde.

Versuch b):

320 mg Trypsin wurden mit 8 ccm Aqua dest. und 2 Tropfen konzentrierter Sodalösung versetzt und 10 Minuten im Wasserbad

gekocht. 4 ccm dieser Trypsinlösung wurden mit $n/_1$-HCl schwach angesäuert und mit 1,6 ccm 96% Alkohol gemischt. Der Alkohol war demnach 30%ig in der Gesamtmischung vorhanden, die sofort peroral gegeben wurde.

In beiden Versuchen sollte der Alkohol, der bereits vom Magen schnell resorbiert wird, als Resorptionsvermittler des Insulins dienen und danneben noch die Tätigkeit der Verdauungsfermente lähmen und als Desinfiziens wirken.

Versuch c):

300 mg Trypsin, 10 ccm Aqua dest., 12 Tropfen $n/_1$-HCl und 50 E Insulin (1,25 ccm) wurden 10 Minuten gekocht und 4,5 ccm dieser Lösung peroral verabreicht. Im Gegensatz zu den früheren Versuchen wurde hier also das Insulin mit dem Trypsin zusammen gekocht um dadurch vielleicht eine innigere Bindung des Insulins mit dem inaktivierten Trypsin zu erreichen.

Versuch d):

120 mg Trypsin, 4 ccm Aqua dest., 2 Tropfen konzentrierte Sodalösung wurden 10 Minuten gekocht, mit 0,8 ccm $n/_1$-HCl angesäuert und 65 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Hierauf wurden 20 E Insulin zugesetzt und nach 25 Minuten die gesamte Versuchslösung peroral appliziert.

Versuch e):

Die Lösung zu diesem Versuch wurde 65 Stunden im Eisschrank aufbewahrt, sonst gleiche Verhältnisse wie im Versuch d).

	Blutzucker in mg %			
	Ausgangswert	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3 Std.
a) Kaninchen Nr. 1	111	112	114	111
b) „ Nr. 13	96	117	121	107
c) „ Nr. 14	96	117	101	
d) „ Nr 13	111	84	80	99
e) „ Nr. 1	94	98	95	

Ergebnis:

Eine Verwendung des Insulins in alkoholischer Lösung bei oraler Applikation ist unbrauchbar, da der Insulinwirkung die infolge der Alkoholresorption auftretende alimentäre Hyperglykämie gegenüber steht. Während im Versuch a) die Wirkung dieser beiden Faktoren sich die Waage hält, also eine Resorption des Insulins

stattgefunden haben muß, ist in Versuch b) bei dem größeren Angebot an Alkohol ein merklicher Blutzuckeranstieg aufgetreten.

Der negative Ausfall des Versuches c) dürfte dadurch zu erklären sein, daß das Trypsin, bevor es durch den Kochprozeß fermentativ unwirksam gemacht worden war, das Insulin zerstört hat.

Versuche d) und e), die unter fast gleichen Bedingungen durchgeführt wurden, zeigen doch ganz entgegengesetzte Resultate. In einem Fall sinkt der Blutzucker um 30 mg %, im anderen bleibt er gänzlich unbeeinflußt. Der Grund für diese Verschiedenheiten ist nicht klar.

Gesamtergebnisse der Versuche mit den inaktivierten Trypsin-Insulin-Gemischen bei peroraler Verabreichung.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungsreihen zeigen ein sehr wechselndes Bild. Während die Mehrzahl der Versuche ohne jeglichen Erfolg geblieben ist, tritt doch in verschiedenen Fällen eine Blutzuckersenkung ein, die dann sogar sehr beträchtlich ist und über lange Zeit andauert. Dies weist darauf hin, daß unter besonders gelagerten, günstigen Bedingungen auch bei oraler Applikation eine Resorption des durch das inaktivierte Trypsin geschützten Insulins stattfinden kann. Trotz weitgehendster Veränderungen bei der Zubereitung der Versuchslösungen konnten jedoch nicht die Faktoren, die die Inkonstanz der Ergebnisse bedingen, ausfindig gemacht und eliminiert werden.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Es konnte in Versuchen an normalen Kaninchen Insulin durch Beigabe eines Extraktes von Dickdarm-, Dünndarmschleimhaut oder Pancreas bei rectaler Verabreichung zur Resorption gebracht und ein Absinken des Blutzuckerspiegels hervorgerufen werden. Die Ergebnisse waren konstant.

2. Auf Grund theoretischer Überlegungen von W. Schuler wurde versucht, das Insulin vor der Zerstörung dadurch zu schützen, daß diejenige Molekülgruppe, an der das Verdauungsferment angreift mit einem inaktivierten Ferment besetzt wird. Es wurde die Wirkung der inaktivierten proteolytischen Fermente Papain und Trypsin daraufhin untersucht. Ein inaktiviertes Papain-Insulin-Gemisch ist bei rectaler Verabreichung ohne jeglichen Einfluß auf die Blutzuckerkurve des normalen Kaninchens. Ein inaktiviertes Trypsin-Insulin-Gemisch führt sowohl bei peroraler wie bei rectaler Darreichung oft zu einer kräftigen und langanhaltenden Erniedrigung des Blutzuckers, die Ergebnisse sind jedoch inkonstant. Die Bedingungen, die zu einer sicheren Insulinresorption führen, konnten noch nicht ausfindig gemacht werden.

Zum Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Privatdozent Dr. Werner Schuler für die freundliche Überlassung des Themas, sowie für die liebenswürdige Unterstützung bei der Durchführung der Versuche vielmals zu danken.

LITERATURVERZEICHNIS.

1. R. Werner, Inaug.Diss. Erlangen 1934.
2. E. Salén, Acta Med. Scand. 60, 74 (1924).
3. H. Bernhard u. C. B. Strauch, Z. klin. Med. 104, 767 (1926).
4. F. Lasch u. S. Brügel, Wien. klin. Wschr. 28, 817 (1926).
5. F. Lasch u. S. Brügel, Arch. f. exper. Path. 120, 144 (1927).
6. W. Löwenstein u. O. Merdinger, Wien. Arch. inn. Med. 14, 523 (1927).
7. G. Samek, Z. exper. Med. 62, 707 (1928).
8. E. Dingemanse u. E. Laqueur, Arch. f. exper. Path. 126, 31 (1927).
9. F. Bertram, S. Horwitz u. E. Wahncau, Klin. Wschr. 1931, 1214.
10. Murlin, Pierce u. Gregg, Amer. Journ. Physiol. 90, 458 (1929).
11. H. Steinitz, Klin. Wschr. 1932, 192.
12. W. Fornet, Wien. klin. Wschr. 28, 1109 (1926).
13. R. Stephan, Münch. med. Wschr. 1929, 1579.
14. P. Martini u. W. Nagel, Münch. med. Wschr. 1930, 1009.
15. V. van der Reis u. G. Schlomka, Münch. med. Wschr. 1930, 1012.
16. H. Steinitz, Klin. Wschr. 1930, 536.
17. R. Kühn, Dtsch. med. Wschr. 1930, 1341.
18. E. Wahncau u. F. Bertram, Klin. Wschr. 1931, 486.
19. S. Peskind, I. M. Rogoff u. G. N. Stewart, Amer. Journ. Physiol. 68, 530 (1924).
20. A. G. Eaton u. J. R. Murlin, Amer. Journ. Physiol. 104, 636 (1933).
21. B. K. Harned u. Th. P. Nash jr., Journ. biol. Chem. 97, 443 (1932).
22. H. C. Hagedorn u. B. N. Jensen, Biochem. Z. 135, 46 (1923).

LEBENSLAUF.

Ich, Alfred Hoffmann, wurde am 16. Februar 1906 als Sohn des Oberlehrers Heinrich Hoffmann und dessen Ehefrau Babette, geb. Straußberger, geboren.

Nach 4jähriger Volksschulzeit besuchte ich ab Herbst 1916 das Melanchthon-Gymnasium zu Nürnberg, das ich 1925 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Vom Wintersemester 1925/26 bis zum Sommersemester 1930 studierte ich an der Technischen Hochschule München. Dort legte ich die Diplom-Hauptprüfung für Maschinen- und Elektroingenieure ab. Vom September 1930 bis Dezember 1931 war ich bei den Siemens-Schuckert-Werken Nürnberg, Transformatorenbau, im Hochspannungsprüffeld und in der Versuchsabteilung angestellt.

Darauf ging ich zum Studium der Medizin über, dem ich bis zum Sommersemester 1935 mit Ausnahme des Sommersemesters 1934, das ich an der Universität Graz verbrachte, ausschließlich an der Universität Erlangen oblag. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im März 1933, das medizinische Staatsexamen im Jahre 1935, beide in Erlangen.